

Reinhold Kerbl, Karl Reiter, Lucas Wessel

Referenz Pädiatrie

Alexander Humberg

Labordiagnostik

Alexander Humberg

Steckbrief

Laboruntersuchungen bei infektiologischen Fragestellungen sind Schlüssel der Differenzialdiagnostik und spielen bei der Auswahl einer geeigneten Therapie eine relevante Rolle. Jedoch werden diagnostische und interpretatorische Fehler unterschätzt. Die Labordiagnostik von Infektionen beginnt nicht erst im Labor, sondern am Krankenbett (präanalytischer Fehler). Unsachgemäß entnommene oder transportierte Proben können die Aussage des Tests zuungunsten einer präzisen Diagnose verfälschen und im ungünstigsten Fall zu einer falschen Therapie führen. Beispiele für häufig auftretende Probleme sind falsche oder unzureichende Probenetikettierung, falsch entnommene Proben, unzureichendes Probenvolumen, falsche Transportmedien und Verzögerungen beim Transport der Proben zum Labor.

Synonyme

- Diagnostik
- Laboruntersuchungen

Keywords

- Mikrobiologie
- klinische Chemie
- Serologie
- diagnostische Tests

Definition

Abnahme und Interpretation diagnostischer Tests gehören für den Kliniker zu den täglichen Routineaufgaben. Dabei müssen für die Verwendbarkeit diagnostischer Tests zwei wichtige Eigenschaften bestehen: seine Reproduzierbarkeit und Validität. Die Reproduzierbarkeit (auch als Zuverlässigkeit oder Präzision bezeichnet) eines Tests ist das Ausmaß, in dem ein erneutes Testen dasselbe Ergebnis liefert. Ein Test, der nicht reproduzierbare Ergebnisse liefert, hat wenig diagnostischen Wert. Die Validität der Ergebnisse eines diagnostischen Tests kann in zwei Komponenten unterteilt werden: Sensitivität und Spezifität. Die Sensitivität beschreibt dabei den Anteil der erkrankten Personen, die durch den Test als erkrankt identifiziert werden. Die Spezifität eines Tests gibt den Anteil von Personen an, die ohne Krankheit auch als nicht erkrankt identifiziert werden. Die diagnostische Genauigkeit eines Tests beschreibt den Anteil aller getesteten Personen, die durch den Test richtig klassifiziert werden ([richtig positiv + richtig negativ]/alle getesteten Personen). Der ideale Test hat sowohl eine Spezifität als auch eine Sensitivität (und damit eine diagnostische Genauigkeit) von 1. Tatsächlich besteht im realen klinischen Alltag ein Kompromiss zwischen Sensitivität und Spezifität – je empfindlicher der Test, desto weniger spezifisch und umgekehrt. Zudem hängen Sensitivität und Spezifität

verschiedener Tests von der Studien- und Datenlage der zugrunde liegenden Population ab. Die Bewertung eines Tests, der nur bei Erwachsenen validiert wurde, macht die Interpretation bei Kleinkindern schwer bis unmöglich und sollte vorsichtig erfolgen.

Der Wert eines Tests für den Kliniker besteht in seiner Vorhersagekraft, also wenn ein Testergebnis positiv ist, wie hoch die Wahrscheinlichkeit ist, dass der Patient die Krankheit hat. In diesem Fall wird vom positiv prädiktiven Wert eines Tests gesprochen. Umgekehrt, wird beim negativ prädiktiven Wert die Wahrscheinlichkeit angegeben, bei der ein Testergebnis negativ ist und der Patient die Krankheit nicht hat. Im Gegensatz zu Sensitivität und Spezifität hängt der Vorhersagewert eines Tests entscheidend von der Prävalenz der Krankheit bei den getesteten Personen ab. Der Vorhersagewert eines negativen Testergebnisses sinkt zum Beispiel, wenn die Krankheitsprävalenz in einer getesteten Probe steigt, obwohl der negative Vorhersagewert ziemlich gut bleibt. Dieser epidemiologische Umstand spielt bei diagnostischen Tests zum Ausschluss möglicher Erkrankungen (z.B. serologische Tests bei Infektionsverdacht) eine wichtige Rolle. Hat ein Patient Symptome, die aufgrund der Anamnese des Patienten, der körperlichen Untersuchung und früherer Labortestergebnisse eine bestimmte Erkrankung nicht wahrscheinlich machen, so sollte sich die Spezifität des angewandten Tests 100% nähern, um nicht eine hohe Wahrscheinlichkeit eines falsch positiven Tests zu haben (was allerdings bei den meisten serologischen Tests unwahrscheinlich ist). Konsequenz für das behandelnde Team wäre, das Ergebnis ignorieren zu müssen oder zusätzliche diagnostische Tests anzuordnen oder schlimmstenfalls den Patienten wegen einer Krankheit zu behandeln, die er gar nicht hat.

Einordnung der Methode im Vergleich zu weiteren Methoden

Bakterielle Erreger

Kulturbasierte Diagnostik

- trotz technologischer Fortschritte molekularer Methoden und Massenspektrometrie weiterhin wichtige Komponente der infektiologischen Diagnostik
- insbesondere wegen der Möglichkeit zur Testung antimikrobieller Empfindlichkeit

Wichtige präanalytische Aspekte für mikrobiologische Untersuchungen

- Nachweis von bakteriellen Pathogenen durch Inkubation
- Eine positive Blutkultur kann Ursache der Infektion bestätigen und eine optimale Antibiotikatherapie steuern.
- Automatisierte Blutkultursysteme ermöglichen regelmäßige Überwachung eines Wachstums von Mikroorganismen.
- Wichtigste präanalytische Variable mit Einfluss auf die Sensitivität ist das inkubierte Blutvolumen:
    - Gerade pädiatrische Patienten haben niedrige Konzentrationen von Bakterien.
    - Die Wahrscheinlichkeit für eine Detektion erhöht sich mit einem erhöhten Volumen der Blutkulturen.
- Blutkulturen sollten rechtzeitig ins Labor transportiert werden und innerhalb von 4h bebrütet werden: Verzögerungen führen zu falsch negativen Ergebnissen und verlängerter Dauer bis zum Nachweis. Eine Vorinkubation sollte nicht erfolgten, da die Ergebnisse erheblich beeinträchtigt werden können (Transport bei Raumtemperatur).
- Für die meisten Organismen ist eine 5-tägige Inkubationszeit ausreichend. Bestimmte Organismen wachsen jedoch so langsam, dass sie bei der routinemäßigen 5-tägigen Untersuchung wahrscheinlich übersehen werden.
- Molekulare Methoden können zum Teil Resistenzphänotypen beschreiben (z.B. Vancomycin-resistente Enterococcus faecium), dürfen aber die Anzucht des Organismus zur „traditionellen“ Empfindlichkeitstestung nicht ersetzen.

Nicht kulturbasierte Nachweismethoden

- direkte Mikroskopie: zuverlässige Technik zum Nachweis von Mikroorganismen und entzündlichen Zellen
- verschiedene Färbemethoden möglich (Gram, Kinyoun, Giemsa, Acridinorange (fluoreszierend), Auramin-Rhodamin (fluoreszierend))

- negatives Färbeergebnis schließt Infektion nicht aus, es sollte immer eine Kultur folgen
- Massenspektrometer:
  - matrixunterstützte Laser-Desorptions-/Ionisations-Flugzeit-Massenspektrometrie (MALDI-TOF-MS) zur schnellen Identifizierung einer Vielzahl von Krankheitserregern innerhalb von Stunden
  - ermöglicht Identifizierung von Organismen mit minimalem Kulturwachstum
  - dadurch Zeit bis zur Identifizierung erheblich verkürzt
- molekulare Diagnosetechniken:
  - Nukleinsäureamplifikationstests (NAATs) weisen bakterielle Nukleinsäuren nach.
  - erhöhen Nachweisempfindlichkeit und kürzere Nachweiszeiten
  - besonders nützlich für Nachweis anspruchsvoller Organismen (schlecht kultivierbare oder atypische Organismen)

Virale Erreger

- Isolierung von Viren in Kultur kaum noch routinemäßig durchgeführt
- für Kulturanzucht werden mehrere Zelllinien beimpft (spezifisch für vermutetes Virus)
- Test des zytopathischen Effekts, Fähigkeit zur Hämadsorption oder Hämagglutinierung oder Immunfluoreszenz mit monoklonalen Antikörpern
- NAATs, serologische Tests oder eine Kombination aus beidem werden für Viren derzeit empfohlen
  - Antigen-Nachweismethoden für die am häufigsten isolierten Viren verfügbar
  - Vorteil: Geschwindigkeit
  - indirekter Immunfluoreszenzassay (IFA) und ELISA am häufigsten für den Antigennachweis verwendet
  - Methoden im Allgemeinen nicht so empfindlich wie NAAT
  - zeitnahe und spezifische Diagnose durch molekulare Methoden (z.T. Point-of-Care-Tests in der Klinik)
  - in den meisten Fällen verbesserte Sensitivität und Spezifität
  - multiplexe NAATs für den Nachweis einer Vielzahl von Viren mit entscheidendem Vorteil, eine Vielzahl von Viren (oder anderen Krankheitserregern) zu testen

Parasitäre Erreger

- Lebenszyklus des Parasiten und Zeitpunkt der Infektion wichtige Faktoren bei der Bestimmung der Art der zu sammelnden Proben und der zum Nachweis der Infektion verwendeten Techniken
- Diagnose der meisten parasitären Infektionen abhängig von makroskopischen oder mikroskopischen Untersuchungen und Antigennachweismethoden
- oftmals spezifische Untersuchungsmethoden je nach vermutetem Parasiten notwendig (Absprache mit dem Labor essenziell)
- nukleinsäurebasierte PCR-Tests (PCR = Polymerase Chain Reaction) ebenfalls möglich

Indikationen

- bei klinischem V.a. Infektion
- Harnstatus: bei jedem unklaren Fieber nach Harnwegsinfekt suchen!
- TORCH-Screening bei V.a. pränatale Infektion
- Bakteriennachweis s. Tab. 43.1
- Virennachweis:
  - Antikörpernachweis:
    - Indikationen: Nachweis/Ausschluss einer Virusinfektion, Verlaufskontrolle,

Therapiekontrolle (Bsp. Hepatitis B + C – quantitative PCR)

      - Methoden: Hämagglutinationshemmtest (HAH), ELISA („enzyme linked immunosorbent assay“), Radioimmunoassay (RIA), Immunfluoreszenztest (IFT), Western Blot
      - Bewertung: Für eine Diagnose als beweisend gelten in der Regel ein 4-facher Titeranstieg in zwei Serumproben innerhalb von 14d (HAH, IFT), ein einzelner besonders hoher Titer der IgG-Klasse (z.B. ELISA) und der Nachweis spezifischer AK der IgM-Klasse.
    - direkter Nachweis: elektronenmikroskopisch, PCR, Immunfluoreszenztest (IFT) oder ELISA
- PCR-Techniken, v.a. Multiplex-PCR-Untersuchungen zum Erregernachweis aus verschiedenen Regionen, je nach Erkrankung
- spezielle Verfahren: s. jeweiliges Krankheitsbild
- weitere Labordiagnostik:
    - Blutbild: Leukozytose?
        - Linksverschiebung der Neutrophilen und toxische Granulation sprechen eher für bakterielle Infektion (Ausnahme Pertussis!).
        - Die Thrombozytenzahl kann im Rahmen von Infektionen im Normbereich bleiben, aber auch erhöht (Bsp. Rotavirusinfektion) oder vermindert sein (Bsp. EBV-Infektion, E. coli Sepsis).
    - BSG und CRP, ggf. Interleukine:
        - ↑ bei bakteriellen Infektionen, aber auch nach Operationen
        - C-reaktives Protein reagiert rascher als BSG, aber langsamer als Interleukine (z.B. IL-6, IL-8), Gefahr der interpretatorischen Lücke
    - Procalcitonin (PCT):
        - signifikant erhöht v.a. bei generalisierten bakteriellen Infektionen und invasiven Pilzerkrankungen (Pilzsepsis)
        - Anstieg früher als CRP, aber später als Interleukine
        - bei Früh- und Neugeborenen nicht validiert

Tab. 43.1 Labordiagnostik zum Erregernachweis bei V.a. bakterielle Infektion.

Material	Indikation	praktische Hinweise
Blutkultur	V.a. Sepsis, Endokarditis, Neugeborene und Säuglinge mit Infektionsverdacht	pädiatrische Kulturflaschen (Aerobier) anaerobe Blutkultur bei entspr. Verdacht und bei älteren Patienten (Cave: größeres Blutvolumen notwendig) Transport bei Raumtemperatur Laborangaben: Erreger und Resistenz; Angabe wichtiger klinischer Daten, Verdachtsdiagnose, ggf. Antibiotikatherapie, Endokarditis
Urin	V.a. Harnwegsinfekt + Leukozyturie	bestenfalls Mittelstrahlurin (MSU), ansonsten Katheter- oder Punktionsurin Bewertung für Spontanharn: >105 Keime/ml signifikante Bakteriurie; 104–105 Keime/ml grenzwertig; <104 wahrscheinlich kontaminiert (v.a. wenn Mischkultur)
Stuhl	V.a. Enteritiden, akute und chronische Diarrhö	möglichst schleimige/blutige Bestandteile in Probengefäß wenn nicht möglich, Rektalabstrich: Stieltupfer bis hinter Analschließmuskel einführen und drehen → sofort in Transportmedium geben Aufbewahrung bei Raumtemperatur
Sputum	meist nur bei chronisch rezidivierenden Atemwegserkrankungen (z.B. Mukoviszidose, Tbc, immunsupprimierten Patienten); nicht bei „normalen“ Atemwegsinfekten	je weniger das Untersuchungsmaterial mit der Flora der Nasen-Mundschleimhaut kontaminiert ist, desto höher die Spezifität generell kritische Bewertung Aufbewahrung bei Raumtemperatur, evtl. gekühlt für Virusnachweis

Material	Indikation	praktische Hinweise
		bei Tbc-Verdacht besser Nüchternmagensaft
Tonsillenabstrich/ Rachenabstrich	bei V.a. Streptokokken	Zunge mit Mundspatel herunterdrücken und Abstrich von entzündeten Bereichen entnehmen Aufbewahrung und Transport bei Raumtemperatur
Liquor	jeder V.a. Meningitis	zügiger Transport ins Labor
Punktionsflüssigkeiten (Pleura, Aszites, Abszess)	V.a. entzündliches Infiltrat	5–10ml Punktat in steriles Gefäß und ggf. weitere Gefäße (Absprache mit dem Labor)

Aufklärung und spezielle Risiken

- Die Interpretation der Untersuchungsergebnisse sollte im Allgemeinen alle fassbaren Erscheinungsbilder der jeweilig zugrunde liegenden Erkrankung in Betracht ziehen.
- Eine Diagnosestellung sollte nicht ausschließlich auf dem Laborergebnis beruhen und bedarf der Einschätzung der klinischen, laborchemischen und mikrobiologischen Diagnostik.
- Patienten und deren Eltern müssen nach Erhalt der Diagnostik über Wahrscheinlichkeiten und mögliche Fehlinterpretation der Befunde aufgeklärt werden.

Personal, Material und Einstelltechnik

Labordiagnostik nach Organsystemen

Atemwege

- Molekulare Panels zur Identifizierung von Pathogenen können Bestandteile der normalen Flora erfassen (z.B. Abstriche der oberen Atemwege).
- mögliche Labornachweise und Methoden:
  - Otitis media: klinische Diagnose, bei Perforation des Trommelfells oder nach Tympanozentese Kultur und mikrobiologische Untersuchung aus Sekret (nasopharyngeale Proben nicht geeignet)
  - untere Atemwege: Schwierigkeit, geeignete Proben der unteren Atemwege zu gewinnen
    - Bronchoalveoläre Lavage liefert qualitativ hochwertige Proben der unteren Atemwege.
    - Untersuchungen von Sputum oder -aspiraten können durch das Vorhandensein einer normalen Flora der oberen Atemwege erschwert werden.
    - Verzögerungen beim Transport können zu einer Überwucherung bedeutender Krankheitserreger durch Kommensalen führen.
    - Probenqualität kann anhand des Vorhandenseins und der Menge von Organismen, Plattenepithelzellen und polymorphkernigen Leukozyten bewertet werden (hohe Anzahl von Plattenepithelzellen stellt oropharyngeale Kontamination dar, große Anzahl von polymorphkernigen Leukozyten kann Qualitätsmarker sein).
  - Pleuraflüssigkeit oder Gewebe aus einer Lungenbiopsie können mikrobiologisch untersucht werden.

Zentrales Nervensystem

- bakterielle Meningitis: zügige und zeitnahe Identifizierung des Erregers von Bedeutung (Lumbalpunktion, Kultur mit Sensitivität 70–90%, PCR-basierte Multiplex-Panels können diese erhöhen)
- Transport bei Raumtemperatur und unverzügliche Verarbeitung (sonst Anstieg der Wahrscheinlichkeit für falsch negative Ergebnisse)
- nicht das erste Röhrchen in die Mikrobiologie geben (Kontamination mit Hautflora oder Blut), besser zweites Röhrchen
- zudem Sensitivität von Probenmenge abhängig (empfohlen mind. 5ml)

Harnwege

- Urinkultur aus Mittelstrahlurin optimal
- Patienten, bei denen Clean-catch-Methode nicht angewendet werden kann, sollten per Katheter oder suprapubischer Punktion Urinuntersuchung erhalten.
- Beutelurin macht in der mikrobiologischen Diagnostik der Harnwegsinfektion keinen Sinn.
- Wenn Urinproben nicht rechtzeitig versendet werden können (<2h), sollten sie gekühlt werden.

Gastrointestinaltrakt

- Diarrhö meist viraler, parasitärer oder immunbedingter Ursache, nicht bakteriell
- Stuhl sollte in einem sterilen Behälter gesammelt und zeitnah transportiert werden.
- Für die Untersuchung auf bestimmte Pathogene werden selektive Medien genutzt.
- Toxingene können durch molekulare Methoden oder das Toxin durch Enzymimmunoassay nachgewiesen werden.
- PCR-basierte Multiplex-GI-Panels bieten eine kurze Diagnostikzeit und können eine breite Palette von Organismen nachweisen.

Durchführung

Probenentnahme

- Die Proben sollten so schnell wie möglich unter optimalen Bedingungen ins Labor transportiert werden (< 2h).
- Proben sollten bei Raumtemperatur transportiert und gelagert werden.
- Bei Verzögerungen sollte die Probe bei Raumtemperatur oder 4°C aufbewahrt werden
- inakzeptabel ist/sind:
  - der Versand in Behältern, die undicht sind
  - Proben, die viele Tage nach der Entnahme eingehen
  - Proben, die unter ungeeigneten Temperaturbedingungen aufbewahrt werden

Mögliche Komplikationen

- Die Gewinnung adäquater Materialien zur Diagnostik von Infektionserkrankungen spielt in der Klinik eine wichtige Rolle.
- Mögliche Komplikationen gehen mit der Invasivität des gewählten diagnostischen Verfahrens einher und müssen vor Durchführung den Patienten bzw. den gesetzlichen Vertretern mitgeteilt werden (z.B. Nervenverletzung bei Blutentnahme, Querschnittslähmung bei Lumbalpunktion).
- Zudem sollte immer eine Abwägung einer „Überdiagnostik“ und unnütze Gefährdung des Patienten gegenüber einer nicht adäquaten Therapie bei „Unterdiagnostik“ abgewogen werden.

Dokumentation

- Zu Interpretation der erfolgten Untersuchungen sollten immer Datum, Uhrzeit, Entnahmestelle und Probenmenge (v.a. bei kulturellen Methoden) angegeben werden.

Literatur

Literatur zur weiteren Vertiefung

- [1] Cherry JD, Harrison GJ, Kaplan SL, Steinbach WJ, Hotez PJ, Hrsg. Feigin and Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Diseases. 8. Aufl. Philadelphia, PA: Elsevier; 2018
- [2] Deutsche Gesellschaft für Pädiatrische Infektiologie e.V. DGPI Handbuch: Infektionen bei Kindern und Jugendlichen. 7. Aufl. Stuttgart: Thieme; 2018

Wichtige Internetadressen

- www.who.int/tdr/publications/documents/glp-handbook.pdf

Quelle:

Humberg A. Labordiagnostik. In: Kerbl R, Reiter K, Wessel L, Hrsg. Referenz Pädiatrie. Version 1.0. Stuttgart: Thieme; 2024.

Shortlink: https://eref.thieme.de/11DDH2PD